

長期にわたりウエスタンブロット法が陰性で治療開始後 第4世代検査が一時期陰性化した急性 HIV 感染症の 1例を通じた病態と診断法の検討

¹⁾ 東京医科大学病院臨床検査医学科, ²⁾ 関東労災病院感染症治療管理部, ³⁾ 虎の門病院臨床感染症科,

⁴⁾ 東京大学医科学研究所附属病院感染免疫内科, ⁵⁾ 慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室,

⁶⁾ 名古屋医療センター臨床研究センター感染・免疫研究部,

⁷⁾ グラクソ・スミスクライン株式会社開発本部メディカル・アフェアーズ部門

丹羽 一貴¹⁾²⁾ 山元 泰之¹⁾ 四本美保子¹⁾ 近澤 悠志¹⁾
 備後 真登¹⁾ 村松 崇¹⁾ 清田 育男¹⁾ 大瀧 学¹⁾
 尾形 享一¹⁾ 萩原 剛¹⁾ 鈴木 隆史¹⁾ 天野 景裕¹⁾
 木村 宗芳³⁾ 米山 彰子³⁾ 高谷 紗帆⁴⁾ 鯉渕 智彦⁴⁾
 加藤 真吾⁵⁾ 岡崎 玲子⁶⁾ 蜂谷 敦子⁶⁾ 杉浦 亙⁷⁾
 福武 勝幸¹⁾

(平成 28 年 1 月 12 日受付)

(平成 28 年 10 月 12 日受理)

Key words: HIV, Western blot assay, HIV1/2 fourth-generation immunoassay, diagnosis, guideline

要 旨

「診療における HIV-1/2 感染症の診断ガイドライン 2008」(ガイドライン 2008) で HIV-1/2 感染症の診断は、抗原抗体同時測定 HIV-1/2 スクリーニング検査(第4世代検査)の陽性時に HIV-1 確認検査にウエスタンブロット(WB)法と核酸増幅検査法(HIV-1 RNA)の同時施行が推奨されている。我々は WB 法陽性化に長期間を要し、抗レトロウイルス療法(antiretroviral therapy: ART)開始後に第4世代検査が3カ月間陰性化した稀な症例を経験した。

症例: 2012 年 10 月, 20 歳代男性が発熱を主訴に前医を受診した。血球貪食症候群(Hemophagocytic syndrome: HPS)が疑われ、第4世代検査は陽性、WB 法陰性、HIV-1 RNA は判定不能のためサイトメガロウイルス(CMV)による HPS と診断、加療された。2013 年 1 月にニューモシスチス肺炎(PCP)を発症、2013 年 2 月に HIV-1 RNA 7.7×10^5 copies/mL、WB 法陰性より急性 HIV 感染症が疑われた。2013 年 4 月より ART が開始され、直後に第4世代検査は陰性化し、2013 年 8 月に再度陽性となった。WB 法は 2014 年 2 月に CDC 基準で陽性となった。

方法と結果: 患者 HIV-1 の遺伝子解析を行い抗体産生の遅延を招く変異は検出されなかった。患者の保存検体に 8 種のスクリーニング検査を実施し、2013 年 3 月まで抗体は検出されず、第4世代検査は抗原のみで陽性を示したと考えられた。

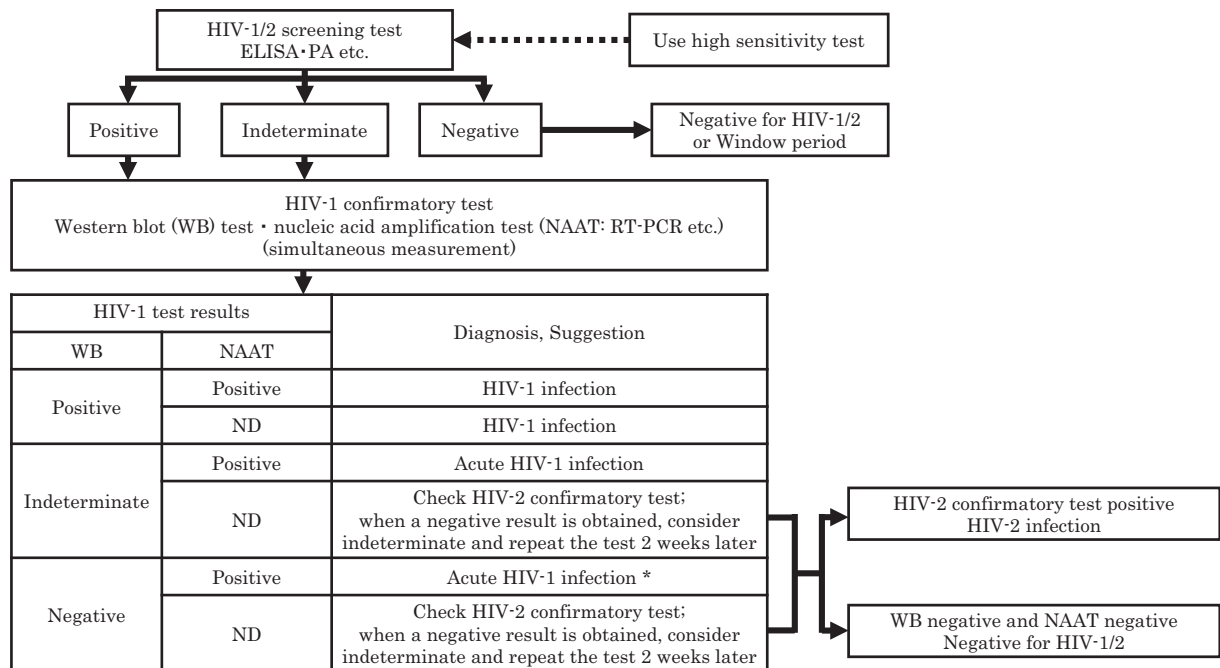
考察: ガイドライン 2008 では第4世代検査と PCR 法により急性感染を診断するが、本症例では PCR 法の結果の取り扱いが不適切であり、抗体産生も遅く診断が混乱した。第4世代検査は重要であり使用を限定するガイドラインが必要である。確認検査に抗体検出法は必要不可欠であるが、WB 法の役割は再検討が必要であり、簡便で感度と特異度が高い検査法の開発が望まれる。

〔感染症誌 91: 7~13, 2017〕

別刷請求先: (〒466-8510) 神奈川県川崎市中原区木月住吉
 町 1-1
 関東労災病院感染症治療管理部 丹羽 一貴

平成29年1月20日

Fig. 1 The current Japanese guidelines for HIV-1/2 diagnosis



* Confirm WB positivity in an appropriate timing at a later date

序 文

「診療における HIV-1/2 感染症の診断ガイドライン 2008 (日本エイズ学会・日本臨床検査医学会 標準推奨法)¹⁾」(ガイドライン 2008)において、HIV-1/2 感染症の診断は、HIV-1 抗原と HIV-1/2 抗体の同時測定による HIV-1/2 スクリーニング検査 (第 4 世代検査) が陽性の場合、HIV-1/2 確認検査として WB 法と核酸増幅検査法 (PCR) の同時施行が推奨されている。そして、HIV-1 の WB 法陰性かつ PCR 法陽性の場合には急性 HIV-1/2 感染症と判定し、後日適切な時期に WB 法で陽性を確認するよう推奨されている (Fig. 1)。一方、米国では 2014 年 6 月から第 4 世代検査の陽性者は WB 法に代わる HIV-1 と HIV-2 の特異抗体検出法で陽性の場合に診断が確定し、どちらも陰性の場合には HIV-1 RNA を測定する診断アルゴリズムが推奨されている。我々は WB 法が陽性化しないまま、免疫機能低下のため ART を開始した後、第 4 世代検査が陰性化した症例を経験したため、ウイルス学的検討と各種スクリーニング検査の性能を比較し、HIV-1 感染症診断法について検討した。

症 例

20 歳代前半、男性。主訴：発熱。既往歴、家族歴：特記事項なし。アレルギー歴：Fluconazole, sulfamethoxazole/Trimethoprim にて皮疹。生活歴：喫煙 10 本/日×2 年間、入院時は禁煙中。性的指向 Bisex-

ual.

現病歴：2012 年 10 月上旬、発熱にて A 病院を受診し、血球減少、肝機能障害、フェリチン高値 (Table 1) を認め、血球貧食症候群 (HPS) と診断され入院となった。第 4 世代検査であるルミパルスプレスト HIV Ag/Ab (富士レビオ) は陽性であったが、WB 法は陰性、HIV-1 RNA (コバス TaqMan HIV-1「オート」, ロシユ・ダイアグノスティックス) は阻害物質により判定不能であった。CMV DNA 2.5×10^3 copies/mL より CMV 感染症に伴う HPS と診断され、免疫抑制療法は行われず、Ganciclovir, Valganciclovir による治療が行われ異常所見は改善した。11 月に WB 法のみ再検査されたが陰性で、CD4⁺ 低値は特発性 CD4 陽性 T リンパ球減少症と診断され、12 月下旬に退院した。しかし 2013 年 1 月に PCP を発症、A 病院再入院となり、2 月に CD4⁺ 85/μL、HIV-1 RNA 7.7×10^5 copies/mL を認め、再び HIV-1 感染症が疑われた。3 月、HIV 感染症の精査加療目的に B 病院を受診し、第 4 世代検査であるアーキテクト・HIV Ag/Ab コンボアッセイ (アーキテクト) (アボットジャパン) 陽性、WB 法陰性、HIV-1 RNA 1.1×10^6 copies/mL より急性 HIV 感染症と診断された。CD4⁺ は 51/μL であった。4 月 5 日、再度、発熱、汎血球減少、肝機能障害を認め、HPS、HIV 急性期症状の持続と判断された。Tenofovir/Emtricitabine, Raltegravir による

Table 1 Laboratory data on Hospital A admission (October 2012) and Our Hospital admission (April 2013)

	Oct 5 2012	Apr 10 2013		Oct 5 2012	Apr 10 2013	
CBC				Serology Immunology		
WBC	2,500	3,000	/ μ L	IgG	696	900 mg/dL
Lymph	47.5	16.9	%	IgA	196	180 mg/dL
Atyp. Lymph	10.5	ND	%	IgM	168	169 mg/dL
HGB	13.7	7.4	g/dL	CD4+	84	50 / μ L
Hct	39.7	22.3	%			
PLT	6.5	3.3	$\times 10^4$ / μ L	Virology		
Chemistry				HBs Ag	(-)	(-)
AST	2,181	114	IU/L	HCV Ab	(-)	(-)
ALT	990	153	IU/L	CMV		
LDH	3,969	372	IU/L	IgG EIA	4.10 (+)	NA
ALP	302	NA	IU/L	IgM EIA	0.94 (\pm)	NA
Cr	0.5	0.58	mg/dL	CMV DNA	2,500	NA Copies/mL
CRP	0.8	<0.3	mg/dL	EBV		
Ferritin	27,862	1,649	μ g/L	VCA IgM	$\times 40$	NA
				VCA IgG	<10	NA
				EBNA	$\times 10$	NA
				HIV-1 RNA	Undeter- minable	62,000 copies/mL

抗 HIV 療法 (ART) が開始されたが、直後より希死念慮が出現し、精神科介入が必須なため 4 月 10 日、当院へ転院となった。

転院時現症：身長 170.8cm、体重 51kg、意識 E4V2 M6、血圧 130/80mmHg、心拍数 100 回/分、呼吸数 14 回/分、体温 37.7°C。右頰部に 3cm の切創を 2 カ所認めた。転院時検査所見では血球減少、肝機能障害を認め、CD4⁺ 50/ μ L、HIV-1 RNA 6.2 $\times 10^4$ copies/mL、WB 法陰性であった (Table 1)。

転院後経過：4 月 11 日、Raltegravir の精神症状への影響を考慮し、Darunavir、Ritonavir へ変更した。5 月 7 日には解熱、血球減少も改善、CD4⁺ 622/ μ L と著明な改善を認め退院となった。HIV-1 RNA は 1.2 $\times 10^4$ copies/mL であったが、アーキテクトは陰性となった。WB 法は初回の第 4 世代検査陽性より 10 カ月後の 8 月に gp160 のみ検出され判定保留となり、アーキテクトも再度陽性となった (Fig. 2)。16 カ月後の 2014 年 2 月には p24/25 が陽性化し、WHO 判定基準 (3 本の Env バンドのうち少なくとも 2 本が陽性) ではなお保留であったが、CDC の基準 (Gag p24 バンドと 3 本の Env バンドのうち少なくとも 2 本が陽性) では陽性と判定された。

方 法

WB 法の陽性化が非常に遅延した特殊な症例を通して、診断上の留意点をウイルス遺伝子解析、免疫学的検査キットの反応性について検討した。

1. ウイルス遺伝子解析

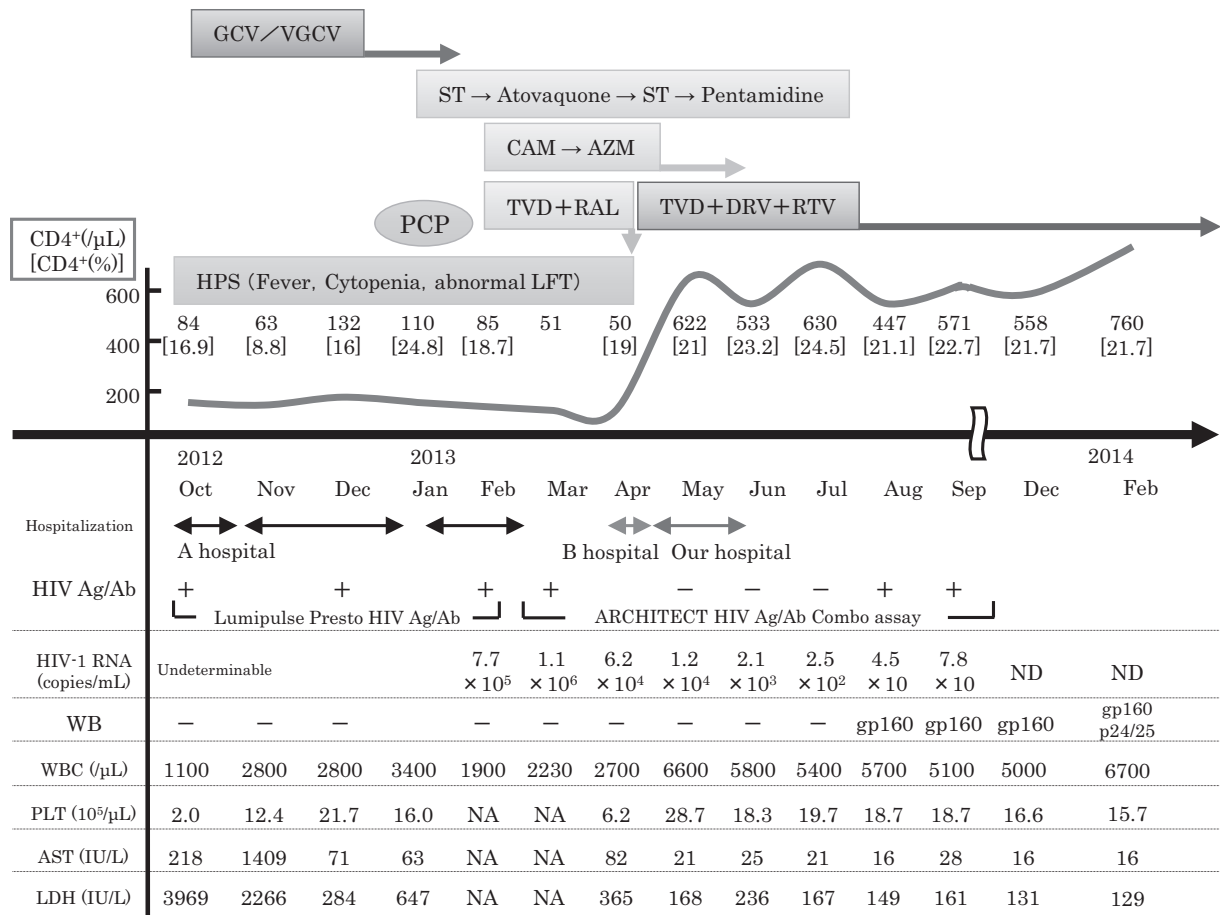
患者血漿 200mL を用い、MagNA pure Compact

核酸アイソレーションキット I (Roche) にて HIV-1 RNA を抽出し、Super script III One-Step RT-PCR System with Platinum Taq High Fidelity (Invitrogen) ならびに LA Taq (TaKaRa) を用いて、HIV-1 遺伝子を増幅した。3730 DNA アナライザー (ABI)、Seqscape (Ver. 3.0) を用いて核酸配列を決定した。また、遺伝子解析領域は、第 4 世代検査ならびに WB 法の標的部位となる HIV-1 *gag* (790-2289 nt according to the position of HXB2 strain)、*env* (6898-8792 nt) 領域、AIDS の発症ならびに病態進行に関与している *nef* (8797-9414 nt) 領域、抗ウイルス薬の標的酵素をコードする *pol* (2085-3269 nt と 4231-5095 nt) 領域とした。

2. 免疫学的検査キットの反応性の検討

当院と B 病院ではアーキテクト (1) が、A 病院ではルミパルスプレスト HIV Ag/Ab (2) がルーチン検査であったが、(1) による第 4 世代検査が一時的に陰性化したため、2012 年 10 月以降の保存検体につき、患者の同意を得た上で検討した。第 4 世代検査として、(1)、バイダスアッセイキット HIV デュオ II (シスメックス・バイオメリュー) (3)、エスプライン HIV Ag/Ab (富士レビオ) (4) を、第 3 世代検査としてジェネディア HIV-1/2 ミックス PA (富士レビオ) (5) を用いて検討した。また 2013 年 5 月に ART を開始した後、第 4 世代検査が陰性化した 2013 年 6 月時点の保存検体で (1) 以外に (3)、(5)、エクルーシス試薬 HIV combi (ロシュ/ダイアグノスティックス) (6)、HISCL HIV Ag+Ab 試薬 (シスメックス) (7)、ルミパルス HIV

Fig. 2 Clinical course of the patient



Ag/Ab (富士レビオ) (8) を用い、各検査キットの性質について検討した。

結 果

1. 遺伝子解析

HIV-1 遺伝子の Gag 領域に SP2 領域に 1 アミノ酸挿入変異を認めたが、抗原検出部位 CA (p24) 領域に特徴的な変異はなかった。Env 領域に gp120 領域に本症例検体特有の 2 つのアミノ酸欠損変異を認めた。抗体検出部位である gp41 領域に特徴的な変異は認めなかった。Nef 領域において、MHC class I 発現を抑制する領域 M20 と Poly E (65-68) に変異はなかった。長期未発症者と関連が指摘されている Poly P Helix もアミノ酸配列は保存されていた。本症例に特有の変異として S8, S9 部位が欠損していたが、病態との関与は明らかでなく (未掲載データ)、HIV サブタイプは B であり薬剤耐性は認めなかった (Table 2)。

2. 免疫学的検査キットの検討

ART 開始前の 2013 年 3 月までの検体では、ジェネディア HIV-1/2 ミックス PA が陰性であり、第 4 世代検査は抗原のみで陽性となっていたと考えられた。また、一部の第 4 世代検査では ART 開始後の 2013

年 7 月にセロコンバージョンを認められた。2013 年 6 月時点の検体を用いた比較では、すべてのスクリーニング検査が陰性であり、抗原と抗体がともに検出出来ない時期があった (Table 3)。宿主側の免疫応答としては CMV, EBV に対する抗体産生は認められていた。

考 察

本邦では、HIV-1/2 感染症の診断にはガイドライン 2008 を用いるのが一般的である。本症例では、2012 年 10 月に第 4 世代検査陽性を検出後、WB 法陰性または保留が 2014 年 2 月まで計 16 カ月持続し、WB 法陽性化までの間、HIV-1 感染症の確定診断には専門家の見解が必要であった。WHO の判定基準では Env のバンド 3 本のうち 2 本以上の出現で陽性とするが、本症例では p24/25 出現後も Env のバンドは 1 本のみで保留の扱いとなった。WB 法陰性が長期に持続した理由はウイルス側の因子に明らかな原因は認められなかった。

急性 HIV 感染時の ART 導入により、抗体の陽転化が遅延した報告があり²⁾、ART を比較的早期に開始した影響は否定できないが、ART 開始までの 6 カ月間に WB 法は陽性とならなかった。セロコンバージョ

Table 2 Results of Laboratory examinations for drug resistance and virus subtype

Drug Resistance Mutations								
PI	IDV・NFV resistance associated mutation: V77I							Result S
NRTI	ND							Result S
INSTI	ND							Result S
Subtype								
Region	Result	Region	Result	Region	Result	Region	Result	
Pol (PR)	B	Pol (RT)	B	env	B	gag	B	
Standard Subtype B	CTRPNNNTRKSIRIGPGQAFYATGDIHGDIRQAHC							
Sample	CTRPNNNTRKSIHIAPGRTLATGDIHGDIRQAHC							
Subtype	B							
Tropism	R5							

Table 3 Genetic analysis of HIV-1 in this case

	2012 Oct	Nov	Dec	2013 Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	2014 Feb
	2012			2013			ART →					
VIDAS HIV DUO QUICK (HIV6) (TV) [cut off < 0.25] (Fourth generation)	+	+			+			-	-	+	+	
	(27.93)	(26.33)			(3.96)			(0.08)	(0.08)	(4.20)	(9.25)	
GENEDIA HIV-1/2 mix PA [cut off < × 16] (Antibody test)	-	-			-			-	-	+	+	
										(× 80)	(× 640)	
Lumipulse Presto HIV Ag/Ab [C.O.I. < 1.0] (Fourth generation)	+		+		+							
	(>15)		(>15)		(7.2)							
ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo assay [S/CO < 1.0] (Fourth generation)						+		-	-	-	+	
						(64.16)					(13.6)	
Espline HIV Ag/Ab (Fourth generation)	Ag	-	-		-			-	-	-	-	
	Ab	-	-		-			-	-	+	+	
ECLusys HIV combi [C.O.I. < 1.0] (Fourth generation)									-			
									(0.37)			
HISCL HIV Ag + Ab [C.O.I. < 1.0] (Fourth generation)									-			
									(0.0)			
Lumipulse HIV Ag/Ab [C.O.I. < 1.0] (Fourth generation)									-			
									(0.2)			
WB	-	-	-		-	-	-	-	-	-	gp160	Gp160 P24/25
HIV-1 RNA (copies/mL)	Inhibition				7.7×10^5	1.1×10^6	6.2×10^4	1.2×10^4	2.1×10^3	2.5×10^2	4.5×10	ND
CD4 ⁺	84	63	132	110	85	51	50	622	533	630	447	760

ンまで長期間を要した宿主側の因子として抗体産生能に異常があった可能性もある³⁾。ただし、本症例では CMV、EB ウイルスには抗体産生を認めた。また急性 HIV 感染時の HPS で WB 法が長期間陽性化しない症

例⁴⁾やステロイドの使用や ART 導入に伴い WB 法で抗体が消失した症例⁵⁾の報告があり、本症例も宿主側の免疫反応の低下が原因の可能性もある。2013 年 5 月～7 月に HIV-1 RNA が検出されている間に、陽性

であった第4世代検査が陰性化した理由は、ARTによるHIV-1増殖の抑制に加え微量の抗体により抗原性がマスクされて陰性化した可能性がある。急性感染時に早期ART開始で抗HIV抗体が低下するセロリバージョンの報告もある⁶⁾⁷⁾。本症例ではART開始により抗体産生がさらに遷延したとも考えられる。

米国疾病予防管理センター (CDC), Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) では、第4世代検査と比較し、WB法や間接蛍光抗体法 (IFA法) は陽性化が遅く非特異反応による判定困難例が生じることより、2014年6月よりこれらを用いない診断アルゴリズムを推奨している⁸⁾⁹⁾。この方法ではHIV-1とHIV-2を鑑別可能な迅速検査法を用いるのが特徴である。ガイドライン2008は確認検査として核酸増幅法をWB法と同時にを行うことが特徴であるが、第4世代検査の使用が推奨にとどまり、未導入の施設では急性感染を見落とす可能性がある。本症例の確定診断にはWB法の2つの判定基準、WHO基準(gp160, gp120, gp41のうち少なくとも2本を検出)とCDC基準(p24, gp41, gp160, gp120のうち少なくとも2本を検出)の違いに苦慮した。ガイドライン2008ではWB法が陰性でもHIV-1 RNAの陽性で急性感染症と診断するが、HIV-1 RNAの偽陽性を否定するため、後日WB法の陽性を確認することになっている。

本症例の診断ではA病院でのHIV-1 RNA検査の結果が阻害物質により判定不能と報告されたまま放置され状況を複雑にした。「阻害物質により判定不能」は検査の信頼性確保のために加えられた内部精度管理標品と検体中のHIV-1 RNAの両者が共に増幅されない場合の検査異常を示す報告表示であり、検査側に原因が無ければ患者側の阻害物質に配慮して再度採血を行い再検査する必要があることを示している。当院の中央検査部では2015年9月から2016年8月の1年間に実施した6,755件の検査において23件(0.34%)発生したが、全例で同一の元検体の再検査により問題は解消されており、担当医に判定不能と報告した例はなかった。つまり、多くは検査装置側の何らかの障害が原因と考えられ、検査室内で解消できる事象であった。A病院において、本症例の結果が「阻害物質による判定不能」と担当医に報告された原因は確認出来ないが、文献上では検体側の阻害物質として高濃度ヘパリンの存在、高度な溶血などが考えられる。本来、ここでは直ちに再採血によるHIV-1 RNAの再検査が必要であったが、検査結果の意味が担当医に正しく伝わらなかった可能性もあり、特殊な検査結果の返却の際に検査部門の役割も重要である。本症例ではHIV-1 RNAの結果の取扱いが不適切で診断が遅延し、抗体産生も遅くWB法の陰性が長期間持続したため診断

が混乱した。ガイドライン2008では制定時期の関係で第4世代検査に限定できていないため第4世代検査の重要性を示して使用を限定する新たなガイドラインが必要である。抗体検出法は確認検査と急性感染の診断に必要不可欠であるが、優れた性能を持つスクリーニング検査が使われる検査室の現状に鑑みWB法の役割は再検討が必要であるとともに操作が簡便で感度と特異度が高い検査法の開発が望まれる。

謝辞：免疫学的検査キット毎の検出感度調査に御協力頂いた東京医科大学病院中央検査部の上道文昭技師長、慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室の親泊あいみ先生に深謝する。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

文 献

- 1) 山本直樹, 宮澤幸久：診療におけるHIV-1/2感染症の診断ガイドライン2008. 日本エイズ学会誌 2009; 11: 70-2.
- 2) Padiglione A, Aleksic E, French M, Arnott A, Wilson KM, Tippett E, *et al.*: Extremely prolonged HIV seroconversion associated with an MHC haplotype carrying disease susceptibility genes for antibody deficiency disorders. Clin Immunol 2010; 137 (2): 199-208.
- 3) Rosenberg ES, Altfeld M, Poon SH, Phillips MN, Wilkes BM, Eldridge R, *et al.*: Immune control of HIV-1 after early treatment of acute infection. Nature 2000; 407: 523-6.
- 4) Adachi E, Koibuchi T, Imai K, Kikuchi T, Shimizu S, Koga M, *et al.*: Hemophagocytic syndrome in an acute human immunodeficiency virus infection. Intern Med 2013; 52 (5): 629.
- 5) 南 留美, 高濱宗一郎, 安藤 仁, 山本政弘：治療後ウエスタンブロット法にて抗HIV抗体が陰性化し持続しているHIV-1感染症の1例. 感染症誌 2009; 83: 251-5.
- 6) Jurriaans S, Sankatsing SU, Prins JM, Schuitemaker H, Lange J, Van Der Kuyl AC, *et al.*: HIV-1 seroreversion in an HIV-1-seropositive patient treated during acute infection with highly active antiretroviral therapy and mycophenolate mofetil. AIDS 2004; 18 (11): 1607-8.
- 7) Hare CB, Pappalardo BL, Busch MP, Karlsson AC, Phelps BH, Alexander SS, *et al.*: Seroreversion in subjects receiving antiretroviral therapy during acute/early HIV infection. Clin Infect Dis 2006; 42 (5): 700-8.
- 8) Clinical and Laboratory Standards Institute: Criteria for laboratory testing and diagnosis of human immunodeficiency virus infection; approved guideline. CSLI document M53-A. CSLI, Wayne, PA, 2011.
- 9) Centers for Disease Control and Prevention and Association of Public Health Laboratories. Laboratory Testing for the Diagnosis of HIV Infec-

tion : Updated Recommendations. Available at
<http://dx.doi.org/10.15620/cdc.23447>. Published

June 27, 2014. Accessed [May 28, 2015].

Investigation of the Pathophysiology and Diagnostic Methods Through a Case of Acute HIV Infection in which the Western Blot Method Remained Negative Over the Long Term and the 4th Generation Screening Assay Became Negative for a Certain Period of Time after Initiating Antiretroviral Therapy

Kazuki NIWA^{1,2)}, Yasuyuki YAMAMOTO¹⁾, Mihoko YOTSUMOTO¹⁾, Yushi CHIKASAWA¹⁾,
Masato BINGO¹⁾, Takashi MURAMATSU¹⁾, Ikuo SEITA¹⁾, Manabu OTAKI¹⁾, Kyoichi OGATA¹⁾,
Tsuayoshi HAGIWARA¹⁾, Takashi SUZUKI¹⁾, Kagehiro AMANO¹⁾, Muneyoshi KIMURA³⁾,
Akiko YONEYAMA³⁾, Saho TAKAYA⁴⁾, Tomohiko KOIBUCHI⁴⁾, Shingo KATO⁵⁾,
Reiko OKAZAKI⁶⁾, Atsuko HACHIYA⁶⁾, Wataru SUGIURA⁷⁾ & Katsuyuki FUKUTAKE¹⁾

¹⁾Department of Laboratory Medicine, Tokyo Medical University Hospital,

²⁾Department of Infection Control, Kanto Rosai Hospital, ³⁾Department of Infectious Diseases, Toranomon Hospital,

⁴⁾Department of Infectious Diseases and Applied Immunology, The University of Tokyo IMSUT Hospital of
The Institute of Medical Science, ⁵⁾Department of Microbiology and Immunology, Keio University,

⁶⁾Department of Infection and Immunology, Nagoya Medical Center Clinical Research Center,

⁷⁾Infectious Disease and Immunology Development and Medical Affairs Division, GlaxoSmithKline K.K.

Confirmatory tests using Western blot (WB) and HIV-1 nucleic acid testing (HIV-1 RNA) following a positive screening test are required for the diagnosis of HIV-1 infection according to the current Japanese guidelines for HIV-1/2 diagnosis. We report herein on a rare case in a patient who remained negative for WB over 10 months in spite of being positive by fourth-generation immunoassays (4thGIA) and who subsequently seroreverted by 4thGIA for three months after initiating antiretroviral therapy.

Case : A man in his early twenties previously visited a hospital because of fever in October 2012. Laboratory data revealed leukocytopenia, thrombocytopenia and increased serum ferritin, suggesting hemophagocytic syndrome (HPS). During that visit, he tested positive for a 4thGIA, but negative for HIV-1 WB and his result of HIV-1 RNA result was detected invalid because of the presence of some inhibitory material in his RNA preparation. Thereafter, he was diagnosed as having cytomegalovirus-associated HPS treatment was for which initiated. In January 2013, he developed *Pneumocystis jirovecii* pneumonia, and his HIV-1 RNA viral load was 7.7×10^5 copies/mL in February 2013. Acute HIV infection was suspected, because the HIV-1 WB remained negative. He was started on antiretroviral therapy in April 2013. His 4thGIA was converted to negative in May 2013 and was reconverted to positive in August 2013. HIV-1 WB, however, continued to be indeterminate until February 2014, in which it turned positive for the first time according to the CDC criteria.

Methods and Results : The genetic analyses of HIV-1 were done on the *gag*, *env*, *nef* and *pol* region of the HIV-1 gene from the patient. There was no clear element to delay antibody production on the virus side. Preserved specimens of the patient were measured with eight kinds of HIV screening assay. It was thought that the fourth generation assay was positive only by the presence of the antigen until March 2013 because the antibody had not been detected.

Discussion : We encountered a case of acute HIV infection in which the WB result was negative for 10 months after the first positive response of the 4thGIA. The 4thGIA is essential for the early diagnosis and early treatment of HIV infection ; therefore, the 4thGIA should be strictly recommended to avoid the use of older generations of immunoassay in the diagnostic guidelines. The role of the WB test should be examined closely from various aspects for use as a confirmatory test under recent laboratory situations in which highly sensitive and specific methods, e.g. the 4th GIA, have become available. In addition, unnecessary confusion due to the diversities of antibody formation should be avoided. The antibody detection tests for HIV are still necessary and indispensable for the confirmation of the disease or the diagnosis of the acute infection stage. Therefore development of a newer antibody measuring method which could achieve an easier operation and should have a higher sensitivity and specificity for HIV confirmation is strongly expected.